

膝骨性关节炎不同中医证型滑液中蛋白多糖和透明质酸含量的变化

庄志杰^{1*}, 卫晓恩², 石印玉², 曹月龙²,

(1. 上海中医药大学, 上海 200021; 2. 上海中医药大学附属曙光医院骨科)

【摘要】目的:观察骨性关节炎(OA)不同中医证型滑液中关节软骨基质蛋白多糖(PG)和透明质酸(HA)的变化为中医辨证分型提供参考依据。方法:60例膝骨性关节炎患者包括瘀血阻络(C组)、肾虚寒凝(D组)、肾虚髓亏(B组)3种证型各20例;10名正常人(A组)。收集以上患者和正常人的关节滑液,应用酶联免疫吸附测定(ELISA)法和放射免疫技术分别检测滑液样本中蛋白多糖和透明质酸的水平。结果:OA患者滑液中PG水平显著高于正常对照组,HA含量显著低于正常对照组($P < 0.05$)。C组滑液中PG水平最高,HA比另两组(B、D组)较高。D组PG水平次之,HA也降低。而在B组PG和HA均明显降低。结论:膝OA患者滑液中PG与HA含量在不同证型之间有差异,可将滑液中PG和HA含量作为中医分型的参考指标。

【关键词】 骨关节炎; 膝; 蛋白多糖; 透明质酸; 中医证型

Change of the proteoglycan and hyaluronic acid in different symptom type of knee OA in human synovial fluid ZHUANG Zhi-jie*, WEI Xiao-en, SHI Yin-yu, CAO Yue-long. Shanghai University of TCM, Shanghai 200021, China

ABSTRACT Objective: To observe the changes of proteoglycan (PG) and hyaluronic acid (HA) in synovial fluid (SF) of osteoarthritis (OA) according to different symptom type of TCM, from which may provide the biochemical index for diagnosis of OA. **Methods:** The SF of 60 patients with knee OA and 10 normal persons (control group, group A) were collected. Those patients were divided into three groups: blockage of channel by blood stasis (group C, 20 cases); deficiency of kidney-Qi accumulation of cold (group D, 20 cases); deficiency of kidney-Qi and marrow (group B, 20 cases). The PG and HA levels in SF were analyzed using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and radioimmunoassay. **Results:** The PG level in OA patients were significantly higher than those of the control group, on the contrary, the HA level were significantly lower than those of the control group. The PG level in group C were highest among 3 groups, then were those in group D. The PG and HA levels in SF in group B decreased significantly ($P < 0.05$). **Conclusion:** The PG and HA levels in SF of osteoarthritis patients were different from those of the control group, indicating that the content of PG and HA in SF of osteoarthritis can be used as biochemical index for diagnoses of OA.

Key words Osteoarthritis; knee; Proteoglycan; Hyaluronic acid; Symptom type of TCM

骨关节炎 (osteoarthritis, OA) 是一种慢性进行性关节疾病, 主要病变在关节软骨。软骨基质蛋白多糖 (proteoglycan, PG) 的降解和丢失在 OA 发病机制中起重要作用^[1]。透明质酸 (hyaluronate, HA) 作为软骨基质的一种生理成分, 在关节内发挥重要的作

用, 对关节软骨具有营养、润滑、保护作用。OA 中医证型可分为肾虚髓亏、肾虚寒凝、瘀血阻络。不同证型滑液中 PG 和 HA 含量是否有变化, 为此我们设计了本实验。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本组 60 例, 男 28 例, 女 32 例; 均为骨科门诊治疗的膝关节骨关节炎患者, 年龄在 40 ~ 60 岁, 平均 50.1 岁。病程最短 3d, 最长 16 年, 平均 5.6 年。60 例 OA 患者分别分为 B 组: 肾虚髓亏组 20 例; C 组: 瘀血阻络组 20 例; D 组: 肾虚寒凝组 20 例;

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30300459)

通讯作者: 庄志杰 Tel: 021-53821650-331 E-mail: mcmazzj@sina.com

*现作者单位: 南京市迈皋桥医院骨科, 江苏 南京 210028

正常人 10例,设为对照组(A组)平均年龄 48.7岁。

1.2 分型标准 膝 OA的中医诊断分型依据及临床科研病例纳入及排除标准采用《上海市中医病症诊疗常规》(第 2版)中的中医辨证分型方法^[2]:肾虚髓亏证:关节隐隐作痛,腰膝酸软,腰腿不利,俯仰转侧不利。伴有头晕、目眩、耳鸣、耳聋。舌淡红,舌苔薄白,脉细。肾虚寒凝证:肢体关节疼痛,重着,屈伸不利,天气变化加重,昼轻夜重,遇寒痛增,得热稍减。舌淡,舌苔白,脉沉细缓。瘀血阻络证:关节刺痛,痛处固定,关节畸形,活动不利,或腰弯背驼,面色晦暗。唇舌紫暗,脉沉或细涩。

1.3 诊断标准 膝 OA的临床诊断标准为美国风湿病协会 1986年制定的膝骨性关节炎分类诊断标准^[3](ACR 1986)。

1.4 研究方法 受试者一次抽取关节滑液 2~5ml(关节穿刺或在关节镜术中取得标本)及摄站立位双膝关节 X线片。关节滑液高速离心(2 000转/min)后置 -70℃环境中保存。应用酶联免疫吸附测定(ELISA)法和放射免疫技术分别检测滑液样本中蛋白多糖和透明质酸的水平。

1.5 主要实验试剂及材料 蛋白多糖酶联免疫检测试剂盒(试剂来源:Bio Source Europe SA)。透明质酸放射免疫分析测定盒(试剂来源:上海海研医学生物技术中心)。

1.6 实验步骤

1.6.1 滑液中蛋白多糖水平的检测 用移液管吸取标准品、对照样本及稀释后的检测样本各 50 μl加入酶标板,加入孵育液 100 μl/孔。置震荡器室温孵育 2 h。洗液洗板 3次。吸走液体后,加入抗体复合物 200 μl/孔。置震荡器室温孵育 1 h。洗液洗板 3次。吸走液体后,在每孔中加入显色液 100 μl,反应 15 min后,每孔中加入终止液 200 μl。置酶标仪于 450 nm 波长处测定并读取吸光度值(OD值),计算蛋白多糖含量。

1.6.2 滑液中透明质酸水平的检测 操作严格按试剂盒说明进行。主要步骤为:滑液(用含 2%小牛白蛋白的 PBS作 3 000倍稀释)50 μl,加试剂 1 100 μl,37℃水浴 60 min。此后分别加 1 标记物,第一抗体,第二抗体 100 μl,每加一种试剂均在 37℃水浴 30 min,最后 3 500转/min,离心 15 min,弃上清,在 FT-613自动计数¹²⁵I放免测量仪(北京核仪器厂)上测定沉淀物放射性(B),计算放射性与总放射性(B₀)比值(B/B₀),在标准曲线上查出相应 HA值。

1.7 统计学处理 所有数据均采用 SPSS 12.0统计软件包分析,采用各组间方差分析及 t检验,以 P < 0.05为差异有显著性意义。

2 结果

膝 OA患者与正常组关节滑液中 PG和 HA含量的比较 见表 1。

表 1 膝 OA患者与正常组关节滑液中 PG和 HA含量的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab 1 The proteoglycan and hyaluronate level of synovial fluid in patients with knee osteoarthritis and control groups ($\bar{x} \pm s$)

Groups	Cases	PG(ng/ml)	HA(mg/ml)
A	10	29.8 ±8.4	2.91 ±0.41
B	20	94.9 ±74.2	0.94 ±0.31
C	20	288.7 ±118.6	1.51 ±0.27
D	20	178.6 ±126.1	1.14 ±0.53

注:A组与 B组比较, P > 0.05, P < 0.05; A组与 C组比较, P < 0.05, P < 0.05; A组与 D组比较, P < 0.05, P < 0.05; B组与 C组比较, P < 0.05, P < 0.05; B组与 D组比较, P < 0.05, P > 0.05; C组与 D组比较, P < 0.05, P > 0.05

Note: Group A compared with group B, P > 0.05, P < 0.05; group A compared with group C, P < 0.05, P < 0.05; group A compared with group D, P < 0.05, P < 0.05; group B compared with group C, P < 0.05, P < 0.05; group B compared with group D, P < 0.05, P > 0.05; group C compared with group D, P < 0.05, P > 0.05

3 讨论

OA滑液中 PG和 HA的含量在不同中医证型中的差异是本实验研究重点,本实验研究结果中,肾虚寒凝组滑液中 PG较高,但 HA含量已降低,说明此型患者软骨代谢较强。瘀血阻络组滑液中 PG最高,HA含量也较高,表明此时患者的分解代谢最明显,结合临床可以看出此型 OA与滑膜增生及炎性变的发生机制有密切关系。肾虚髓亏组随着软骨基质总量丢失,PG和 HA分解代谢进入滑液量亦明显减少,此型和 OA晚期软骨大部分丧失 PG代谢趋于衰竭关系较为密切。

通过检测正常和出现 OA症状,但无软骨形态学改变患者(以防止因软骨代谢衰竭而出现阴性结果)的滑液中 PG和 HA的含量为标准,有望建立一个敏感稳定的生化检测指标。可以利用上述指标的差异来区别 OA的各种证型,为 OA的中医分型提供客观的临床标准,从而利于 OA的分型,特别是在临床各证错杂辨证困难时可利用生化指标的差异来指导临床用药,同时也可作为检测治疗是否有效的指标。本研究结果证实 OA滑液中 PG和 HA的水平是反映软骨代谢的指标,并可为骨关节炎各种中医证型的分型提供参考依据。

· 病例报告 ·

创伤弧菌引起伤口感染 1例

Wound infection caused by traumatic vibrio: A case report

池胜英, 周铁丽

CHI Sheng-ying, ZHOU Tie-li

关键词 创伤弧菌; 感染 **Key words** Vibriovulnificus; Infections

创伤弧菌为低度嗜盐非霍乱弧菌, 自然存在于海水和海生植物中, 是正常海生植物丛的组成部分, 生食贝壳类海产品是感染创伤弧菌的主要传播途径^[1]。但引起伤口感染较少见, 我们从 1 例伤口感染患者的水泡液中分离出创伤弧菌, 现报告如下。

1 临床资料

患者, 男, 71 岁, 温州苍南沿海地区人, 因左下肢软组织严重感染伴坏死, 于 2004 年 10 月 4 日入院。患者于 5 月左足部被小狗咬伤, 未经正式治疗, 伤口一直未完全愈合, 但无明显红肿热痛。1 周前因下田劳动, 而出现发热伴畏寒、寒战, 左小腿出现红肿, 疼痛较明显, 第 2~4 趾发紫, 足背和小腿皮肤出现水泡并迅速增大, 入院时左小腿已出现溃烂。查体: 肝脾肿大, 体温 39.1, 脉搏正常, 血压 125/70 mmHg, 左下肢组织高度肿胀, 皮肤表面见大小不一的黑紫色水泡, 部分融合成大泡, 皮肤表皮剥脱渗水。彩色 B 超检查显示肝硬化伴少量腹水; 左下肢深静脉及大动脉无明显异常, 排除了左下肢动脉栓塞。实验室检查: 总蛋白 46.6 g/L, 白蛋白 19.5 g/L, 白球比 0.70, 谷丙转氨酶 (ALT) 40 U/L, 谷草转氨酶 (AST) 45 U/L, 尿素氮 6.9 mmol/L, 肌酐 67 μmol/L, 白细胞计数 (WBC) 13.6 ×10⁹/L, 中性粒细胞 92%, 淋巴细胞 6%, 单核细胞 2%, 血红蛋白 139 g/L, 血小板 (PLT) 108 ×10⁹/L。于 10 月 25 日取水泡液做细菌培养, 分离出创伤弧菌。根据药敏试验结果, 选用左氧氟沙星 (商品名: 来立信, 每瓶 100 ml 含 200 mg) 静脉滴注, 每天 2 次, 每次 100 ml, 并补充白蛋白和血浆。4 d 后体温恢复正常, 感染逐渐得到控制, 11 月 1 日再取创口坏死组织培养, 结果未发现致病菌, 11 月 13 日进行左下肢扩创截趾术和自体皮瓣移植术, 并于 11 月底治愈出院。

2 细菌鉴定和药敏试验

将患者左下肢的水泡液接种于羊血平板上, 置 35 普通环境培养, 24 h 后生长出细小、光滑、边缘整齐、扁平突起

的菌落; 48 h 后部分菌落顶端凹陷, 正中有一突起, 呈双层状。涂片染色显示为革兰氏阴性逗点状或短杆状, 单极端单鞭毛, 无芽胞, 无明显荚膜。在 0%、8%、10% NaCl 的蛋白胨水不生长, 在含 3%~6% NaCl 的蛋白胨水中生长良好, 在 35 培养 8~12 h 后即可见明显混浊。生化反应: 氧化酶阳性, 触酶阳性, 能氧化发酵葡萄糖, 产酸不产气, 能利用果糖、麦芽糖、甘露醇, 鸟氨酸脱羧酶、赖氨酸脱羧酶阳性, 精氨酸双水解酶阴性, O/129 试验敏感, 具有嗜盐性。经 VITEK 法国生物梅里埃公司细菌分析仪 GN I+卡鉴定为创伤弧菌 (鉴定编码为 6000300227), 鉴定值为 99%。药敏试验: 氧氟沙星、庆大霉素、先锋霉素、菌必治、头孢噻肟、环丙沙星、妥布霉素均敏感, 头孢西丁、丁胺卡那霉素、多粘菌素 B 耐药。

3 讨论

创伤弧菌是弧菌属的一种, 通常健康人不易感染, 而肝病 (如肝硬化、酒精性肝硬变等) 和免疫功能低下者是高危人群, 他们感染创伤弧菌的危险性比一般人高 80 倍, 死亡率高 200 倍^[2,3]。本例患者因小腿被咬伤, 并与海水接触而感染了创伤弧菌, 鉴于该菌感染的凶险性, 临床上对于免疫功能低下患者局部出现蜂窝组织炎或出血性大疱, 并有海产品接触史者应高度考虑创伤弧菌感染可能, 对于本病, 早期的病原学检查和药敏试验是关键, 一旦实验室分离到创伤弧菌, 根据药敏试验给予足量抗生素治疗, 这对防止引起致死性败血症有重要的意义, 是否采取截肢术视病灶情况而定。

参考文献

- 1 卢中秋, 李秉熙, 黄唯佳, 等. 创伤弧菌败血症的临床和流行病学特点. 中国急救医学, 2003, 23 (7): 470-471.
- 2 Nakafusa J, Misago N, Miura Y, et al The importance of serum creatine phosphokinase level in the early diagnosis, and as prognostic factor, of Vibriovulnificus infection. Br J Dermatol, 2001, 145 (2): 280-284.
- 3 应斌宇, 孙来芳, 卢中秋, 等. 创伤弧菌原发性脓血症的临床研究. 中华急诊医学杂志, 2003, 12 (2): 121-122.

(收稿日期: 2005 - 02 - 20 本文编辑: 李为农)

温州医学院附属一院检验科, 浙江 温州 325000

参考文献

- 1 卫晓恩, 杨庆铭, 邓康夫, 等. 骨关节炎软骨基质蛋白多糖变化的实验研究. 中华风湿病杂志, 2002, 6 (1): 25-27.
- 2 刘国华, 张明岛. 上海市中医病症诊疗常规. 第 2 版. 上海: 上海中医药大学出版社, 2003. 83-84.

- 3 Altman R, Asch E, Bloch G, et al Diagnostic and therapeutic criteria committee of the american rheumatism association Development of criteria for the classification of osteoarthritis of the knee. Arthritis Rheum, 1986, 29: 1039-1049.

(收稿日期: 2005 - 03 - 02 本文编辑: 李为农)